

# Untersuchungen zum Biosyntheseort und Transport von Cardenoliden in *Convallaria majalis* L.

Cardenolide Biogenesis and Translocation in *Convallaria majalis* L.

Brigitte Kopp \*, Wolfgang Löffelhardt \*\* und Wolfgang Kubelka \*

\* Institut für Pharmakognosie der Universität Wien, Währingerstr. 25, A-1090 Wien

\*\* Institut für Allgemeine Biochemie der Universität Wien und Ludwig Boltzmann-Forschungsstelle für Biochemie

Z. Naturforsch. **34 c**, 334–339 (1979); eingegangen am 5. Februar 1979

*Convallaria majalis* L., [4-<sup>14</sup>C]Progesterone, Cardenolide Biogenesis, Translocation

[4-<sup>14</sup>C]Progesterone, fed to leaves and whole plants of *Convallaria majalis* L., was incorporated into the main cardenolide glycosides. After application of [4-<sup>14</sup>C]progesterone to the leaves of intact plants via the epidermis labelled desglucocheirotoxin, convallatoxin and convallatoxol were isolated from rhizomes and roots. When the precursor was administered to rhizome cuttings no radioactivity could be detected in the cardiac glycoside fraction.

The experiments pointed out that during the stage of flowering biosynthesis of cardenolide glycosides takes place in the leaves of *Convallaria majalis* rather than in the subterranean parts of the plant. A translocation of these substances from the leaves to rhizomes and roots seems possible.

## Einleitung

*Convallaria majalis* L. enthält mit Ausnahme des Fruchtfleisches der reifen, roten Beeren in allen Organen herzwirksame Substanzen, wobei die Cardenolidzusammensetzung in den einzelnen Pflanzenteilen im wesentlichen übereinstimmt und auch während der Vegetationsperiode kaum verändert wird; einzig in den Samen herrschen polare, zuckerreiche Verbindungen vor [1–6].

Wenn in allen Teilen einer Pflanze dieselben Sekundärstoffe aufgefunden werden, so kann dies entweder darauf zurückzuführen sein, daß deren Biosynthese in sämtlichen Organen stattfindet oder aber, daß zwar nur einzelne Pflanzenteile zum Aufbau bestimmter Substanzen befähigt sind, diese jedoch vom Produktionsort in andere Organe transportiert werden.

Aus Untersuchungen über die Biogenese der Alkaloide ist bekannt, daß Biosyntheseort und Lokalisation dieser Naturstoffe nicht ident sein müssen. In steroidführenden Pflanzen (*Solanum tuberosum*, *Dioscorea spiculiflora* u. a.) werden in allen Organen diese Verbindungen aufgebaut, das Synthesevermögen in den einzelnen Pflanzenteilen ist aber sehr unterschiedlich; eine Parallelität zwischen höchstem Gehalt und größtem Produktionsvermögen ist meist zu beobachten [7–12]. In *Pelargonium hor-*

*torum* und *Helianthus annuus* konnte ein Transport von Steroiden verfolgt werden, doch ist die Translokation stark von der Struktur bzw. Löslichkeit der Verbindungen abhängig [13].

Cardenolidhaltige Pflanzen wurden hinsichtlich der Biogenese von Herzglykosiden recht eingehend untersucht [14–23], über die Bildungsstätte(n) und etwaigen Transport dieser Verbindungen liegen allerdings kaum Befunde vor. Wir versuchten daher, erste Informationen über Bildungsort bzw. Translokation der herzwirksamen Inhaltsstoffe bei *Convallaria majalis* zu erhalten.

Die Applikation von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron an Blatt und Rhizom des Maiglöckchens – beide Organe weisen etwa denselben Gehalt an Cardenoliden auf [4] – sollte zeigen, ob und in welchem Ausmaß diese Substanz als Precursor für die Biogenese der Herzglykoside verwertet wird.

Bei Verabreichung an die Blattspreiten ganzer *Convallaria*-Pflanzen wurde versucht, durch Variation der Applikationsmethode die Aufnahme von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron und damit die Einbaurate zu verbessern, gleichzeitig aber auch Aussagen über einen möglichen Transport innerhalb intakter Pflanzen zu erhalten.

## Material und Methoden

**Pflanzenmaterial:** Für unsere Versuche verwendeten wir „Eiskeimlinge“ von *Convallaria majalis* L. (Blütezeit Mitte Juni), die im Glashaus unseres Institutes gezogen wurden [24].

Sonderdruckanforderung an Prof. Dr. W. Kubelka.

0341-0382 / 79 / 0500-0334 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

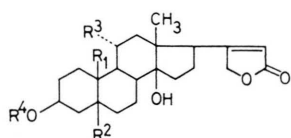
Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

**Radioaktiv markierte Verbindungen:** [4-<sup>14</sup>C]-Progesteron mit einer spezifischen Aktivität von 53 mCi/mmol wurde von Radiochemical Centre, Amersham, England, bezogen.

**Nicht markierte Verbindungen:** Die Cardenolide (Convallatoxin, Convallatoxol, Desglucocheirotxin, Desglucocheirotxol, Perigulosid, Periplorhamnosid, Rhodexin A), die für den chromatographischen Vergleich sowie für die Kristallisation verwendet wurden, sind an unserem Institut aus *Convallaria majalis* isoliert und rein dargestellt worden [6, 25, 26].



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
Rhodexin A	CH <sub>3</sub>	H	OH	-rhamnose
Perigulosid	CH <sub>3</sub>	OH	H	-6-desoxygulose
Periplorhamnosid	CH <sub>3</sub>	OH	H	-rhamnose
Desglucocheirotxin	CHO	OH	H	-6-desoxygulose
Convallatoxin	CHO	OH	H	-rhamnose
Convallatoxol	CH <sub>2</sub> OH	OH	H	-rhamnose

Abb. 1.

#### *Applikation von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron an abgeschnittene Blätter von Convallaria majalis:*

Eine Lösung von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron (10 µCi = 2,22 × 10<sup>7</sup> dpm) in 0,1 ml Äthanol, verdünnt mit 0,2 ml Wasser, ließen wir von fünf am Blattstiel abgeschnittenen Blättern von *Convallaria majalis* einsaugen. Nach etwa drei Stunden war die Hauptmenge der Lösung aufgenommen. Unter wiederholter Wasserzugabe blieben die Blätter vierzehn Tage bei Zimmertemperatur und Tageslicht in einem Spitzkölbchen stehen. Das Autoradiogramm eines Blattes zeigte, daß nach vierzehntägiger Versuchsdauer die Hauptmenge an radioaktiver Substanz (etwa 95%) im Blattstiel lokalisiert war, nur ca. 5% konnte in der Blattspreite nachgewiesen werden.

#### *Applikation von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron an Rhizomstücke von Convallaria majalis:*

10 µCi [4-<sup>14</sup>C]Progesteron in 100 µl 50-prozentigem Äthanol injizierten wir in Portionen zu je 5 µl in etwa 30 mm lange Rhizomstücke von *Convallaria majalis* (insgesamt 4,5 g Frischgewicht); anschließend wurden die Organteile in eine flache Schale

eingelegt und 2 ml destilliertes Wasser zugegeben. Unter Ergänzung des verdunsteten Wassers ließen wir 8 Tage bei Zimmertemperatur stehen.

#### *Applikation von [4-<sup>14</sup>C]Progesteron an ganze Pflanzen von Convallaria majalis:*

10 µCi [4-<sup>14</sup>C]Progesteron – gelöst in 0,3 ml 50-prozentigem Äthanol – wurden mit Hilfe einer Pasteurpipette auf die mit einer Lösung von 2% Tween 20 in Wasser vorbehandelten Blattspreiten von 3 „Einzelpflanzen“ appliziert [24]. Nach dem Eintrocknen der äthanolischen Lösung besprühten wir die Blätter mit einer Mischung von Petroläther-Siliconöl 1:1 [21]; das nach Verdampfen des organischen Lösungsmittels verbliebene Siliconöl wurde rasch aufgenommen (etwa innerhalb eines Tages). Die Versuchspflanzen ließen wir 8 Tage im Laboratorium stehen.

#### *Isolierung und Identifizierung der Folgeprodukte aus abgeschnittenen Blättern von Convallaria majalis:*

Nach 14 Tagen wurde nicht aufgenommener Precursor mit 70-prozentigem Äthanol von den Blattstielen abgewaschen, die Blätter zerschnitten und 2mal mit je 30 g Äthanol heiß extrahiert. Den Rückstand der Äthanolösung nahmen wir in 20 ml Wasser auf und entfernten die Ballaststoffe durch 2maliges Ausschütteln mit je 5 ml Benzol. Mit 3mal 30 ml Chloroform-Äthanol (9:1) und 3mal 30 ml Chloroform-Äthanol (3:2) erfolgte die Extraktion der Cardenolide. Der Rückstand der organischen Phase wurde nach Lösen in Chloroform-Methanol (1:1) für die PC verwendet (Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, System: Benzol-*n*-Pentanol-Wasser 1:1:2, Oberphase, 60% stationäre Phase; Laufzeit: 12 Stunden). Die Zonen der Folgeprodukte schnitten wir aus dem PC aus, eluierten wiederholt mit Chloroform-Methanol (1:1) und chromatographierten nochmals (Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, System: Toluol-*n*-Butanol 4:1, wassergesättigt, 35% stationäre Phase, Laufzeit: 4 Stunden, bzw. System: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid 50:50:6,5 [27], imprägniert mit Aceton-Formamid 4:1, Laufzeit: 16 Stunden). Die Folgeprodukte zeigten in den angeführten Systemen gleiche Laufstrecken wie die Vergleichssubstanzen Periplorhamnosid, Desglucocheirotxin, Convallatoxin und Convallatoxol. Die radioaktiven Zonen wurden aus den PCen ausgeschnitten, mit Methanol erschöpfend eluiert und von

einem Teil die Radioaktivität im Szintillationszähler bestimmt. Aufgrund der sehr geringen Aktivität der metabolisierten Verbindungen haben wir nur Convallatoxin mit inaktivem Material vermischt und aus Methanol-Wasser bis zur konstanten spezifischen Radioaktivität umkristallisiert.

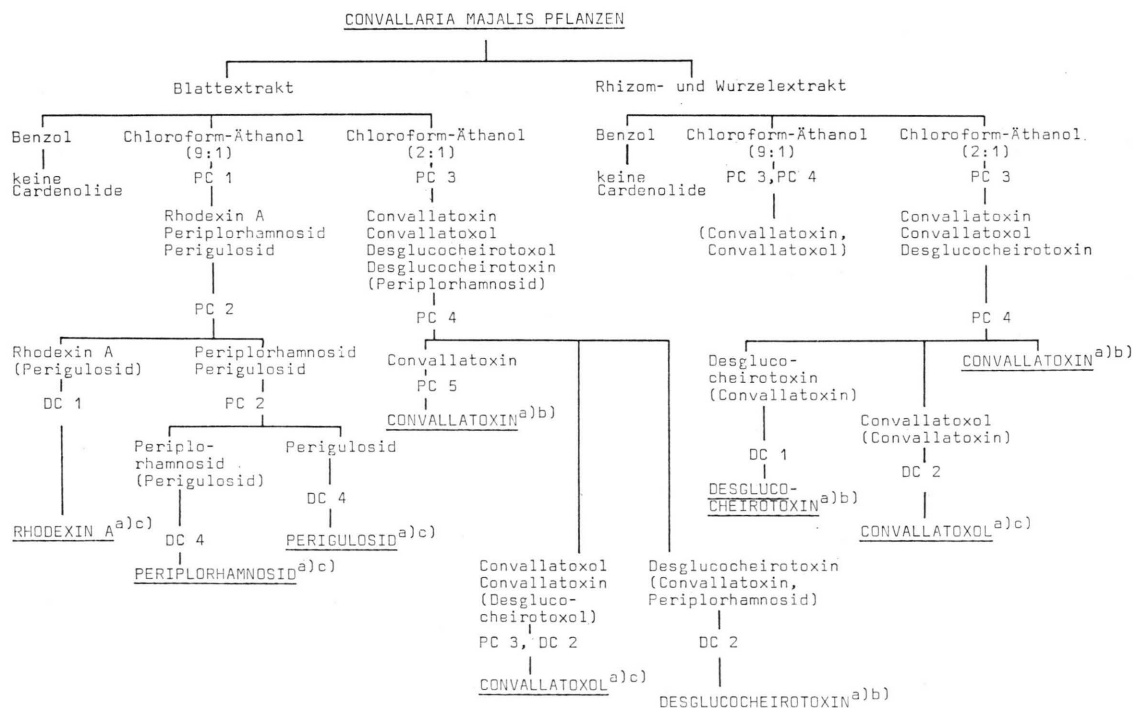
#### Isolierung der Folgeprodukte aus den Rhizomstückchen:

Die Rhizomstücke wurden 8 Tage nach der Applikation mit Äthanol abgewaschen, mit einer Rasierklinge zerkleinert und — wie bei der Aufarbeitung der Blätter angegeben — extrahiert. Die Auftrennung der metabolisierten Verbindungen erfolgte wieder durch PC (Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, System: Benzol-*n*-Pentanol-Wasser 1 : 1 : 2, Oberphase, 60% stationäre Phase, Laufzeit: 12 Stunden). Neben der Hauptmenge an Ausgangsmaterial waren auf dem PC weitere radioaktive Zonen mit gleichen Laufstrecken wie Desglucocheirototoxin, Convallatoxin, Convallatoxinol und Lokundjosid nachweisbar (hRf 80, 67, 55 und 38, vgl. aber die Angaben unter „Ergebnisse und Diskussion“). Nach Elution

erfolgte wiederholte Chromatographie dieser Folgeprodukte (nacheinander: PC, Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, Systeme: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid 50:50:6,5; imprägniert mit Aceton-Formamid 4:1; Toluol-*n*-Butanol 2:1, wassergesättigt, 35% stationäre Phase; DC: Kieselgel 60 F-254 Fertigplatten Fa. Merck, Systeme: Chloroform-Methanol-Wasser 7:3:1 und 75:25:10, Unterphase; Methyläthylketon-Toluol-Wasser-Methanol-Eisessig 40:5:3:2,5:1 [28]).

#### Isolierung und Identifizierung der Folgeprodukte aus den „Einzelpflanzen“ von *Convallaria majalis*:

Die Blätter der ganzen Pflanzen wurden kurz über dem Rhizom abgeschnitten und nicht aufgenommener Precursor mit 70-prozentigem Äthanol abgewaschen. Die Extraktion der zerschnittenen Blätter sowie der zerkleinerten unterirdischen Anteile (Rhizome und Wurzeln) erfolgte getrennt, aber analog wie vorher angegeben, nur wurden die Chloroform-Äthanol (9:1) — und Chloroform-Äthanol (2:1) — Auszüge gesondert zur Trockne gebracht und weiterbehandelt (vgl. Schema 1).



Schema 1: Isolierung von radioaktiv markierten Folgeprodukten aus ganzen Pflanzen von *Convallaria majalis* nach Applikation von  $[4-^{14}\text{C}]$  Progesteron

Zusätzliche Identifizierung: a) Kristallisation zur konstanten spezifischen Radioaktivität  
b) Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$   
c) Acetylierung

Die Identifizierung der metabolisierten Verbindungen erfolgte vorerst mittels Chromatographie in verschiedenen Systemen (PC: Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, System 1: Toluol-*n*-Butanol 4:1, was-sergesättigt, 35% stationäre Phase, Laufzeit: 4 Stunden; System 2: Benzol-Methyläthylketon 1:1, formamidgesättigt, imprägniert mit Aceton-Formamid 4:1, Laufzeit: 14 Stunden; System 3: Benzol-*n*-Pentanol-Wasser 1:1:2, Oberphase, 60% stationäre Phase, Laufzeit: 12 bzw. 16 Stunden; System 4: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid 50:50:6,5, imprägniert mit Aceton-Formamid 4:1, Laufzeit: 16 Stunden; System 5: Toluol-*n*-Butanol 2:1, was-sergesättigt, 35% stationäre Phase, Laufzeit: 5 Stunden; DC: Kieselgel 60 F-254 Fertigplatte Merck, System 1: Chloroform-Methanol-Wasser 8:2:1, Unterphase; System 2: Methyläthylketon-Toluol-Wasser-Methanol-Eisessig 40:5:3:2,5:1; System 3: Chloroform-Methanol-Wasser 7:3:1, Unterphase; Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Folie Fa. Merck, System 4: Chloroform-Äthanol 8:2).

Jeweils ein Teil des chromatographisch identifizierten Folgeproduktes wurde mit dem entsprechenden inaktiven Cardenolid vermischt und aus Methanol-Wasser bzw. Aceton-Wasser bis zur konstanten spezifischen Radioaktivität umkristallisiert.

Zusätzlich sicherten wir die Identität, indem wir die Metaboliten Rhodexin A, Perigulosid, Periplo-ramnosid und Convallatoxin acetylierten [29] und die Rohacetate mit authentischen Proben chromatographisch verglichen (DC: Kieselgel 60 F-254 Fertigplatte Fa. Merck, System: Chloroform-Methanol-Wasser 9:1:1, Unterphase). Die Folgeprodukte [<sup>14</sup>C]Desglucocheirototoxin und [<sup>14</sup>C]Convallatoxin wurden mit NaBH<sub>4</sub> reduziert; die beiden Reaktionsprodukte zeigten gleiche Laufstrecken wie die Vergleichssubstanzen Desglucocheirototoxin und Convallatoxin (PC: Schleicher und Schüll, 2043 b Mgl, System: Benzol-*n*-Pentanol-Wasser 1:1:2, Oberphase, 60% stationäre Phase, Laufzeit: 16 Stunden, bzw. 19 Stunden).

#### *Reduktion von [<sup>14</sup>C]Convallatoxin:*

[<sup>14</sup>C]Convallatoxin — vermischt mit 3 mg inaktiver Substanz — lösten wir in 0,5 ml 75-prozentigem Dioxan und fügten bei 20 °C innerhalb von 30 Minuten eine Lösung von 6 mg NaBH<sub>4</sub> in 1,8 ml 75-prozentigem Dioxan zu. Das Reaktionsgemisch blieb 5 Stunden verschlossen bei Zimmertemperatur stehen. Anschließend brachten wir durch Zugabe von

1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf pH 3 und entfernten das Dioxan unter Zusatz von 2mal 2 ml Wasser im Vakuum. Die wäßrige Lösung wurde 3mal mit 15 ml Chloroform-Äthanol (2:1) ausgeschüttelt und die organische Phase zur Trockne gebracht.

#### *Reduktion von [<sup>14</sup>C]Desglucocheirototoxin:*

[<sup>14</sup>C]Desglucocheirototoxin und 3 mg inaktive Verbindung wurden in 0,5 ml 80-prozentigem Äthanol gelöst; bei -18 °C versetzten wir die Lösung mit 6 mg NaBH<sub>4</sub> in 1,0 ml 80-prozentigem Äthanol und ließen das Reaktionsgemisch 5 Stunden bei 0 °C stehen. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie oben angeführt.

#### *Messung der Radioaktivität:*

Die Auswertung der radioaktiven Zonen der PC erfolgte mit Hilfe eines 4- $\pi$ -PC-Scanners der Fa. Tracerlab. Die Aktivität auf den DC-Platten bestimmten wir mittels eines DC-Scanners mit 2- $\pi$ -Meßkopf (Fa. Berthold). Die eluierten Folgeprodukte sowie kristallinen Proben wurden im Flüssigszintillationszähler (Fa. Beckmann LS-230) ausgezählt.

#### *Autoradiographie:*

Für die „Makro-Autoradiographie“ verwendeten wir einen Structurix D-10-Röntgenfilm (Fa. Agfa Gevaert); die Expositionszeit betrug 3 Tage („contact technique“).

### **Ergebnisse und Diskussion**

Früheren Untersuchungen zufolge weisen Rhizome von *Convallaria majalis* L. etwa gleichen Cardenolidgehalt auf wie die Blätter, auch das Glykosidspektrum in diesen Organen zeigte gute Übereinstimmung [4, 6]. Sollten in beiden Pflanzenteilen unabhängig voneinander herzaktive Inhaltsstoffe gebildet werden, müßten nach Applikation von [4-<sup>14</sup>C]-Progesteron an isolierte Rhizome bzw. abgeschnittene Blätter <sup>14</sup>C-markierte Cardenolide in diesen Organen nachzuweisen sein.

Nach 8tägiger Versuchsdauer konnten wir aus den Rhizomstückchen zahlreiche Folgeprodukte isolieren, die ähnliche Polarität wie Convallaria-Glykoside aufwiesen. Eingehende Untersuchungen (wiederholte Chromatographie in verschiedenen Systemen) zeigten aber eindeutig, daß keiner dieser Metaboliten



mit den bisher bekannten *Convallaria*-Cardenoliden ident war (Tab. I). Durch die von uns gewählte Verabreichungsmethode des Precursors, u. z. Injizieren der Lösung direkt ins Gewebe, sollten Transport- sowie Permeabilitätsschwierigkeiten der Vorstufe soweit wie möglich vermieden werden. Eine Ausschwemmung des markierten Progesterons in die die Rhizomstückchen umgebende Flüssigkeit trat dabei ebenfalls nicht ein: die Lösung wies nur geringe Radioaktivität auf. Obwohl die Rhizome zum Zeitpunkt unserer Versuche Synthesevermögen zeigten, worauf die zahlreichen Metaboliten hinweisen, so können diese isolierten Organteile den vorliegenden Befunden zufolge Progesteron nicht für die Biosynthese von Cardenolidglykosiden verwerten.

Nach Applikation einer [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteronlösung an abgeschnittene Blätter von *Convallaria majalis* gelang es uns hingegen nach 14tägiger Versuchsdauer, radioaktiv markierte Cardenolide nachzuweisen und zu isolieren (Tab. I).

Wie die Autoradiographie eines Blattes zeigte, waren knapp vor Abbruch des Versuches etwa 95% der Aktivität im Blattstiel lokalisiert, nur ein sehr geringer Anteil konnte in der Blattspreite aufgefunden werden, und hier wiederum vorwiegend in den Leitungsbahnen. Das Autoradiogramm brachte somit eine Erklärung für die niedere Einbaurate bzw. geringe Aktivität der Folgeprodukte Periplorhamnosid, Desglucocheirototoxin, Convallatoxin und Convallatoxol. Wenn man aber berücksichtigt, daß nur ca. 5% des Precursors in die Blattspreite gelangt sind ( $1,1 \times 10^6$  dpm [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron), so entspricht beispielsweise die Radioaktivität des Folgeproduktes Convallatoxol (8000 dpm) einem recht guten Einbau von 0,73%.

Um ein besseres Eindringen des Precursors ins Blatt zu erzielen, applizierten wir [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron in 50-prozentigem Äthanol auf die Blattoberfläche ganzer Pflanzen. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigt Tab. II.

Erwartungsgemäß erwies sich bei geeigneter Verabreichungsmethode Progesteron als gute Vorstufe der *Convallaria*-Cardenolide, die Umwandlungsrate entspricht annähernd den bei *Digitalis*-Glykosiden erhaltenen Werten [14–16, 19]. Die prozentuelle Einbaurate des Precursors in die Cardenolide von *Convallaria majalis* steht in gutem Einklang auch mit dem mengenmäßigen Anteil der entsprechenden herzkaktiven Substanzen am Gesamtglykosidgehalt der Blätter [29].

Tab. I. Applikation von [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron (10  $\mu\text{Ci}$ ) an Blätter bzw. Rhizomstücke von *Convallaria majalis*.

Folgeprodukt	Einbau [dpm]	
	Blatt	Rhizom
Periplorhamnosid	800	< 200
Desglucocheirototoxin	1400	< 200
Convallatoxin	1700	< 200
Convallatoxol	8000	< 200

Tab. II. Aktivität der Folgeprodukte 8 Tage nach Applikation von [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron an *Convallaria majalis*-Pflanzen ( $2,22 \times 10^7$  dpm, 53  $\text{MCi/mol}$ , 10  $\mu\text{Ci}$ ).

Pflanzenteil	Folgeprodukt	Aktivität [dpm]	Einbaurate [%]
Blätter	Perigulosid	$2,5 \times 10^3$	0,011
	Rhodexin A	$8,7 \times 10^3$	0,039
	Periplorhamnosid	$1,0 \times 10^4$	0,045
	Desglucocheirototoxin	$1,5 \times 10^5$	0,67
	Convallatoxol	$1,9 \times 10^5$	0,85
	Convallatoxin	$5,5 \times 10^5$	2,48
Rhizome + Wurzeln	Desglucocheirototoxin	$9,5 \times 10^4$	0,43
	Convallatoxol	$1,2 \times 10^5$	0,54
	Convallatoxin	$2,0 \times 10^5$	0,90

Verbindungen wie Periplorhamnosid oder Convallatoxol, die wir für die biogenetischen Untersuchungen auf der Monoglykosidstufe als Precursoren eingesetzt hatten [29, 30], konnten nun nach Vorgabe von [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron radioaktiv markiert aus den Blättern isoliert werden, was ihre Stellung als Zwischenstufe im Biosyntheseweg von *Convallaria*-Glykosiden bestätigt.

Bemerkenswert scheint weiter, daß nach Applikation von [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron an die Blattspreiten intakter Pflanzen auch radioaktiv markierte Cardenolidglykoside in den unterirdischen Organen nachzuweisen waren, u. z. ausschließlich die relativ gut wasserlöslichen Verbindungen Convallatoxin, Convallatoxol und Desglucocheirototoxin (vgl. Tab. II). Ein Transport von [ $4\text{-}^{14}\text{C}$ ]Progesteron aus dem Blatt in die unterirdischen Teile der Pflanze ist nach den Ergebnissen aus dem obigen Versuch mit abgeschnittenen *Convallaria*-Blättern auszuschließen; außerdem wies die Benzolphase von Wurzel und Rhizom, in der Progesteron angereichert sein müßte, nur geringe Radioaktivität auf. Eine Umwandlung des Precursors in eine Transportform (Pregnanglykosid?), anschließende Translokation in die unterirdischen Teile und nachfolgende Umsetzung zu Car-

denoliden wäre denkbar, dagegen spricht aber die ausschließliche Anwesenheit von Strophanthidol- und Strophanthidinglykosiden bei gleichzeitigem Fehlen von Periplogeninderivaten, welche ja die biogenetischen Vorstufen der erstgenannten Verbindungen darstellen. Mit großer Wahrscheinlichkeit wurden demnach die im Blatt gebildeten [ $^{14}\text{C}$ ]Cardenolidglykoside von dort in die unterirdischen Organe transportiert. Da sogar eine Translokation des Aglykons Strophanthidol aus der Blattspreite von *Convallaria* in Rhizom und Wurzel nachgewiesen werden konnte [24], ist ein Transport der viel besser wasserlöslichen Strophanthidol- und Strophanthidinglykoside um so eher denkbar.

Die erhaltenen Befunde zeigen deutlich, daß während der Blütezeit von *Convallaria majalis* die Blattspreite den Biosyntheseort der Cardenolide darstellt, die anschließend in den Vakuolen gespeichert werden können [31]. Da im Rhizom in diesem Vegetationsstadium keine Umwandlung von Progesteron zu Cardenoliden nachzuweisen war, deuten die aus den unterirdischen Organen ganzer Pflanzen isolierten radioaktiv markierten Strophanthidol- und Strophanthidinderivate eher auf einen Transportvorgang als auf eine Cardenolidsynthese in Rhizom und Wurzel hin.

Der Österreichischen Apothekerkammer danken wir für die Bereitstellung des DC-Scanners.

- [1] J. Schmutz u. T. Reichstein, *Pharm. Acta Helv.* **22**, 359 (1947).
- [2] R. A. F. Laufke, *Pharmazie* **12**, 772 (1959).
- [3] W. Bleier, Dissertation Universität Wien 1966.
- [4] W. Kubelka u. B. Zacherl, *Sci. Pharm.* **40**, 248 (1972).
- [5] M. Wichtl, K. Jentzsch u. W. Aigner, *Sci. Pharm.* **36**, 94 (1968).
- [6] B. Kopp, Dissertation Universität Wien 1975.
- [7] H. Sander, *Planta* **47**, 374 (1956).
- [8] D. F. Johnson, E. Heftmann u. C. V. C. Houghland, *Arch. Biochem. Biophys.* **104**, 102 (1964).
- [9] R. D. Bennett, E. Heftmann, A. E. Purcell u. J. Bonner, *Science* **134**, 671 (1961).
- [10] R. D. Bennett, E. Heftmann, W. H. Preston u. J. R. Hahn, *Arch. Biochem. Biophys.* **103**, 74 (1963).
- [11] H. J. Nicholas, *J. Pharm. Sci.* **50**, 645 (1961).
- [12] H. Sander, *Planta medica* **11**, 307 (1963).
- [13] A. M. Atallah, R. T. Aexel, R. B. Ramsey, St. Threlkeld u. H. J. Nicholas, *Phytochemistry* **14**, 1927 (1975).
- [14] R. Tschesche, R. Becker u. R. Hombach, *Z. Naturforsch.* **23b**, 1615 (1968).
- [15] R. Tschesche u. R. Becker, *Z. Naturforsch.* **25b**, 107 (1970).
- [16] R. Tschesche, H. Scholten u. M. Peters, *Z. Naturforsch.* **24b**, 1492 (1969).
- [17] D. J. Aberhart, J. G. Lloyd-Johnes u. E. Caspi, *Phytochemistry* **12**, 1065 (1973).
- [18] E. Caspi u. D. O. Lewis, *Science* **156**, 519 (1967).
- [19] R. D. Bennett, H. H. Sauer u. E. Heftmann, *Phytochemistry* **7**, 41 (1968).
- [20] E. Caspi u. G. M. Hornby, *Phytochemistry* **7**, 423 (1968).
- [21] R. Tschesche, R. Hombach, H. Scholten u. M. Peters, *Phytochemistry* **9**, 1505 (1970).
- [22] G. Franz u. H. Meier, *Planta medica* **17**, 396 (1969).
- [23] H. Pilgrim, *Phytochemistry* **11**, 1725 (1972).
- [24] B. Kopp, W. Löffelhardt u. W. Kubelka, *Z. Naturforsch.* **33c**, 646 (1978).
- [25] W. Kubelka, *Planta medica* **19**, 153 (1971).
- [26] W. Kubelka u. S. Eichhorn-Kaiser, *Pharm. Acta Helv.* **45**, 513 (1970).
- [27] F. Kaiser, *Chem. Ber.* **88**, 556 (1955).
- [28] B. Görlich, *Arzneimittel-Forsch.* **15**, 493 (1965).
- [29] W. Kubelka, B. Kopp, K. Jentzsch u. H. Ruis, *Phytochemistry* **16**, 687 (1977).
- [30] W. Kubelka, B. Kopp, K. Jentzsch u. H. Ruis, *Phytochemistry* **13**, 1805 (1974).
- [31] W. Löffelhardt, B. Kopp u. W. Kubelka, *Phytochemistry*, im Druck.